Aus der Universitäts-Kinderklinik Erlangen
Damaliger Direktor: Prof. Dr. Adam †

„Über den Nachweis von Agglutininen gegen Pasteurella pseudotuberculosis bei Kindern".

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Vorgelegt von
Karl Müller X)
aus Neustadt b. Cobg.

X) D29

1958 №25

Dekan: Prof. Dr. N. Henning

1. Referent: Privatdozent Dr. O. H. Braun

2. Referent: Prof. Dr. Windorfer

Tag der mündlichen Prüfung: 28. April 1958

Zeitschrift für Kinderheilkunde, Bd. 80, S. 7—12 (1957)

Aus der Universitäts-Kinderklinik Erlangen (damaliger Direktor: Prof. Dr. Adam †)

Über den Nachweis von Agglutininen gegen Pasteurella pseudotuberculosis bei Kindern

Von

O. H. Braun und K. Müller

(Eingegangen am 17. April 1957)

Unter Pseudotuberkulose versteht man ein Krankheitsbild bei Nagetieren, welches in pathologisch-anatomischer Hinsicht eine mehr oder weniger große Ähnlichkeit mit der Tuberkulose besitzt und welches durch das von Pfeiffer 1889 isolierte „Bacterium pseudotuberculosis rodentium Pfeiffer" hervorgerufen wird. Dieser Erreger wird der Pasteurella-Gruppe zugeordnet und ist für viele Tiere, besonders aber für Nagetiere (Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse), pathogen. Die in der Literatur beschriebenen Fälle von Pseudotuberkulose beim Menschen sind sehr selten. Das klinische Bild ist durch einen septikämischen Verlauf gekennzeichnet. Es wird vermutet, daß infizierte Haustiere, wie Katze oder Hund, sowie Mäuse oder Ratten bei der Übertragung eine Rolle spielen.

1953 berichtete Masshoff über eine besondere Form einer Lymphadenitis mesenterialis, die hauptsächlich bei Kindern und Jugendlichen beobachtet wurde und unter dem Bilde einer Appendicitis verlaufen kann. Hörstebrock hat kurze Zeit später diese Befunde bestätigt und außerdem festgestellt, daß diese eigenartige Entzündung auch Lymphdrüsen anderer Körperteile ergreifen kann. Die Ätiologie der abscedierenden reticulocytären Lymphadenitis wurde von Knapp (1954) durch den Nachweis von Past. pseudotuberculosis aus mesenterialen Lymphknoten geklärt, nachdem zuerst von Masshoff (1953) die Virusgenese angenommen wurde.

1954 konnten Knapp u. Masshoff über 15 Fälle von abscedierender reticulocytärer Lymphadenitis mesenterialis berichten. Bei 3 dieser Fälle konnten aus steril entnommenen Lymphknoten Stämme gezüchtet werden, die sich nach ihrem kulturellen, morphologischen und biochemischen Eigenschaften als Pasteurella pseudotuberculosis erwiesen. Der anatomische Befund bei den mit dem Lymphknotenmaterial infizierten Meerschweinchen entsprach dem Bilde der Pseudotuberkulose der Nager. Auch mit Rekonvaleszentenseren durchgeführte Agglu-

tinationsproben sprachen dafür, daß Pasteurella pseudotuberculosis der Erreger der Lymphadenitis mesenterialis ist. Es wurden Antikörper im Titer zwischen 1:200 und 1:5120 festgestellt. Damit können diese Fälle als operativ, bakteriologisch bzw. serologisch und histologisch gesichert angesehen werden.

Kuhlmann u. Herrmann (1955) haben bei einer größeren Anzahl von Patienten Serumagglutinationsproben gegen Past. pseudotuberculosis ausgeführt. Titerhöhen von 1:40 wurden als verdächtig, solche von 1:80 als positiv bezeichnet.

Bei 10 Patienten wurden positive Resultate erhoben. Hinsichtlich des klinischen Bildes wurden 2 Gruppen unterschieden. Bei der ersten Gruppe von Patienten mit positivem Agglutinationsergebnis handelte es sich um 8 Patienten, die schon seit Jahren an uncharakteristischen Darmstörungen litten. Klinisch und röntgenologisch boten sie das Bild einer chronischen Enteritis. Bei 2 Fällen wurden verkalkte Mesenterialdrüsen nachgewiesen. Bei der zweiten Gruppe handelte es sich um 2 Patienten mit dem Bilde einer subakuten Enteritis.

Durch diese Untersuchungen, sowie eine frühere Beobachtung von Knapp (1954), war gezeigt worden, daß Infektionen durch Pasteurella pseudotuberculosis auch unter dem Bilde einer Gastroenteritis verlaufen und in dieser Form auch bei Erwachsenen auftreten können. Schließlich hat Knapp (persönliche Mitteilung) noch einen Fall von Past. pseudotuberculosis beobachtet, der unter dem klinischen Bilde eines Paratyphus verlief. Der Erreger wurde 2mal aus der Blutkultur gezüchtet. Therapeutisch wurden Erfolge mit Tetracyclin erzielt.

Die besondere Eignung der Tetracycline zur Behandlung der Infektion mit Past. pseudotuberculosis wurden auch durch Resistenzbestimmungen in vitro von Knapp (1955) bestätigt. Auch Neomycin sowie Chloromycetin, Streptomycin und Penicillin in etwas höheren Dosen zeigten sich in vitro gegenüber diesen Keimen wirksam.

In einer jüngst erschienenen Arbeit von Knapp u. Steuer (1956) werden die Ergebnisse der Untersuchungen von Patientenseren und Kaninchenimmunseren mit der Agglutinationsreaktion und der Komplementbindungsreaktion mitgeteilt. Bei 35 Patienten, deren Infektion mit Past. pseudotuberculosis durch das klinisch-bioptische Bild, durch Nachweis eines Agglutinintiters zwischen 1:160 und 1:5120, zum Teil auch des Erregers, sowie durch die histologischen Befunde gesichert war, zeigte sich die Komplementbindungsreaktion der Agglutinationsmethode gegenüber unterlegen. Dieselben Beobachtungen wurden auch mit Kaninchenimmunseren gemacht.

Zweck der vorliegenden Arbeit war die Prüfung der Frage, ob — gemessen an Agglutinationsproben mit Past. pseudotuberculosis in Seren von Kindern mit unklaren, nicht das klinische Bild einer Appendicitis zeigenden abdominellen Erscheinungen — Infektionen mit diesen Erregern auch im Kindesalter eine mehr oder weniger große Rolle spielen.

Material

Das Untersuchungsgut bestand aus 101 Säuglingen und Kindern im Alter zwischen 16 Tagen und 14 Jahren. Es handelte sich bei einem Teil dieser Patienten um solche mit mehr oder weniger auffallenden Magen-Darm-Erscheinungen. Die Untersuchungen wurden im Sommer 1955 ausgeführt.

Methode

Die Agglutinationsreaktionen wurden nach den Angaben von KUHLMANN u. HERRMANN ausgeführt. Als Antigen wurden Abschwemmungen einer Schrägagarkultur (Standard I-Agar, Merck) von Past. pseudotuberkulosis mit physiol. Kochsalzlösung verwendet. Hierzu wurden die Kulturen 48 Std bei Zimmertemperatur gezüchtet. KNAPP (1956) gibt neuerdings an, daß solche Antigene besser geeignet sind, als wenn die Stämme bei 37°C gezüchtet werden. Die Suspension wurde mit 0,4% Karbol versetzt und 24 Std im Brutschrank aufbewahrt.

Ein Originalstamm von Past. pseudotuberculosis wurde uns dankenswerterweise von Herrn Dr. HERRMANN, Essen, zur Verfügung gestellt. Es handelte sich um den Past. pseudotuberculosis-Stamm 2^I vom Serotyp I, den KNAPP aus einem menschlichen mesenterialen Lymphknoten gezüchtet hatte. Obwohl 5 Serotypen (I—V) bekannt sind und deshalb KNAPP fordert, daß alle 5 Serotypen in der Routinediagnostik mitgeführt werden sollen, glauben wir durch die Verwendung nur eines Serotyps keinen größeren Fehler gemacht zu haben, da der Serotyp I, wie die Untersuchungen von KNAPP u. STEUER gezeigt haben, am häufigsten vorkommt. Unter 35 Patienten wiesen nur 4 Agglutinine gegen Serotyp II, die restlichen gegen Serotyp I auf.

Es wurde eine Verdünnungsreihe der Seren (je 0,2 cm³ Serumverdünnung) hergestellt und die gleiche Menge Antigen dazugegeben. Die Ansätze wurden 10 min bei 3000 rpm zentrifugiert. Durch das Zentrifugieren wurde die Empfindlichkeit der Reaktion erheblich gesteigert, wie sich uns auch bei anderer Gelegenheit bei der Prüfung der Seren von Säuglingen mit Colienteritis ergeben hatte (BRAUN, SEELIGER u. WAGNER).

Es liefen jedesmal Kontrollen in physiol. Kochsalzlösung mit, um Spontanagglutinationen auszuschließen. Außerdem wurden Kontrollagglutinationen in einem Kaninchenserum ausgeführt, das einen Titer von 1:2560 aufwies. Diese Kontrollen sind zur Prüfung der Güte des Antigens besonders wichtig. Die Ablesung wurde gegen eine Lichtquelle mit dem bloßen Auge und mit der Lupe durchgeführt.

Ergebnisse

Besondere Schwierigkeiten bereitet die Beurteilung der Spezifität der Agglutination. KUHLMANN u. HERRMANN geben an, daß sie Agglutinationstiter von 1:40 als verdächtig, von 1:80 als beweisend angesehen haben. KNAPP teilt uns persönlich mit, daß er bei Neuerkrankungen nur Titer, die 1:100 und höher liegen, als positiv ansieht, wobei er grundsätzlich jede Agglutination mit 2—3 Stämmen vom Typ I durchführt, weil die einzelnen Stämme unterschiedlich stark agglutinabel sind.

Mit unserer Methodik ergab sich, daß die verwertbare Titergrenze mindestens eine Titerstufe höher, als von KUHLMANN u. HERRMANN angegeben, anzusetzen ist. Dies ist darauf zurückzuführen, daß wir eine empfindlichere Methode (Zentrifugiermethode) angewandt haben. Zwar haben wir bei unseren 101 Patienten in 20 Fällen positive Reaktionen erhalten. Es zeigte sich aber, daß der größte Teil dieser Ergebnisse nicht verwertbar ist, da die Reaktionen unter der von HERRMANN angegebenen kritischen Titergrenze liegen. Wir konnten die Berechtigung dieser Titergrenze nur bestätigen, da sich zeigte, daß Agglutinationstiter von 1:40 und darunter bei

demselben Patienten inkonstant sind, d. h. wenige Tage später nicht mehr nachgewiesen werden können. Dasselbe stellten wir auch bei 2 Patienten mit dem Titer von 1:80 im Serum fest, bei denen 2 bzw. 3 Tage später keine Agglutinine mehr vorhanden waren. Pseudoreaktionen, die man auf Salmonella-Agglutinine im Blutserum zurückführen könnte, sind bei Verwendung nur des Typs I von Past. pseudotuberculosis nicht zu erwarten, da eine Antigengemeinschaft zwischen Salmonella und Past. pseudotuberculosis nur bei Typ II und IV gefunden wurde (Knapp 1955).

Das Patientengut wurde in 2 Gruppen eingeteilt.

I. Patienten mit abdominellen Beschwerden. Es handelte sich um insgesamt 66 Kinder. Nur bei einem von ihnen konnten im obigen Sinne positive Reaktionen erhalten werden. Im einzelnen waren in dieser Patientengruppe folgende Zustandsbilder enthalten:

1. 20 Patienten mit enteritischen Beschwerden im Alter zwischen 2 Wochen und 8 Jahren. 15 Kinder hatten akute Enteritiden, während 5 Kinder an chronischen enteritischen Beschwerden litten. Die Seren der Kinder mit akuten Beschwerden waren zwischen dem 7. und 15. Tag nach Krankheitsbeginn untersucht worden, die der anderen nach der Klinikaufnahme.

2. 21 Kinder im Alter zwischen 2 und 14 Jahren mit rezidivierenden Leibschmerzen und Nabelkoliken. Bei 14 von ihnen konnten die Beschwerden auf eine Gastritis, Jejunitis, Subacidität und ähnliches zurückgeführt werden.

3. 4 Kinder mit unklaren Brechzuständen. In diese Gruppe fällt der Patient mit der positiven Agglutinationsreaktion. Es handelte sich um ein 2 Jahre altes Kind, das in der letzten Zeit vor der Klinikaufnahme an häufigem Erbrechen litt. Es bestanden Temperaturen um 38^0 und auch in der Klinik trat noch regelmäßig Erbrechen bei normalen Stühlen auf. Leukocytenzahl war innerhalb der Norm. Die Rö.-Untersuchung des Magen-Darmkanals ergab keinen krankhaften Befund. Nach der Behandlung mit Streptomycin + Penicillin (= Supracillin) trat eine Besserung des Zustandes und Entfieberung ein. 11 Tage nach der Klinikaufnahme wurde ein Serumtiter von 1:160, 5 Tage später von 1:320 festgestellt. Etwa einen Monat später zeigte das Serum einen Titer von 1:10, war also negativ. Bei den anderen drei Kindern dieser Gruppe handelte es sich um akute Brechzustände, bei einem Fall begleitet von Durchfällen.

4. Wegen der Befunde von Knapp u. Masshoff untersuchten wir eine Reihe von Patienten mit appendizitischen Beschwerden, die in die chirurgische Klinik eingeliefert worden waren. (Herrn Professor Dr. Hegemann, Direktor der Chirurg. Univ.-Klinik, sind wir für die Überlassung von Krankengeschichten dankbar.) 21 Kinder wurden untersucht. Bei 18 Kindern im Alter von 2—13 Jahren wurde eine Operation durchgeführt. Nur bei einem Fall war die Appendix kaum entzündet. Bei 3 Kindern wurde der Appendicitisverdacht nicht durch die Operation bestätigt, da die Beschwerden wieder spontan abklangen.

Es wurden in keinem Fall signifikante Titer gegen Past. pseudotuberculosis festgestellt.

II. Patienten mit anderen Krankheitserscheinungen. Zur Kontrolle wurden 35 Patienten mit anderen Krankheitserscheinungen, aber ohne abdominelle Beschwerden untersucht. Auch hier wurden keine positiven Agglutinationsreaktionen festgestellt. Wohl fanden wir aber in 5 Fällen niedere Titer bis 1:40. Dies unterstreicht, daß man solche Reaktionen nicht verwerten kann.

Diskussion

Nach unseren Untersuchungen sieht es so aus, daß Infektionen mit Past. pseudotuberculosis mit entsprechenden klinischen Erscheinungen bei Kindern relativ seltene Ergebnisse darstellen, da sich aus unserem Material nur bei einem einzigen Fall ein solcher Zusammenhang diskutieren läßt.

Auf der anderen Seite geht aus den Untersuchungen von Knapp hervor, daß eine Infektion durch Past. pseudotuberculosis mit appendicitischer Verlaufsform doch wesentlich häufiger ist, als man das bisher vermuten konnte. Daß wir bei solchen Krankheitsbildern keine positiven Titer finden konnten, liegt sicher daran, daß wir nur 3 Kinder untersuchen konnten, bei denen der Appendicitis-Verdacht durch die Operation nicht bestätigt wurde. Wir können also über die Häufigkeit von positiven Titern bei Fällen mit Appendicitis-Verdacht nach unserem Material nichts aussagen.

Wir glauben aber doch die Vermutung aussprechen zu können, daß bei abdominellen Krankheitsbildern, wie sie den Pädiater besonders interessieren (Nabelkoliken, unklare Brechzustände, rezidivierende Leibschmerzen und enteritische Beschwerden), Infektionen mit Past. pseudotuberculosis offenbar keine größere Rolle spielen. Es besteht allerdings die Möglichkeit, daß man bei einer vollständigen Routinediagnostik mit den 5 Serotypen, wie sie Knapp ausführt, doch noch den einen oder anderen Fall mit solchen Beschwerden als Past. pseudotuberculosis-Infektion aufklären könnte.

Wir können auf Grund eines von uns beobachteten Falles bestätigen, daß eine Infektion mit Past. pseudotuberculosis unter dem Bilde einer Enteritis verlaufen kann. Wie schon Knapp bei seinen Patienten beobachtet hat, sind positive Agglutinationstiter nicht konstant, sondern verschwinden mit der Zeit wieder.

Es lohnt sich also, in Krankheitsfällen bei Kindern mit unklaren abdominellen, besonders appendicitischen und enteritischen Beschwerden, wo man sonst ätiologisch nicht weiterkommt, nach Agglutininen gegen diese Keime zu fahnden. Man muß sich aber darüber im klaren sein, daß

die Interpretation der positiven Reaktionen schwierig ist und mehrfache Kontrollen zur Sicherung der ätiologischen Zusammenhänge erforderlich sind.

Zusammenfassung

Unsere Ergebnisse über den Nachweis von Agglutininen gegen Past. pseudotuberculosis Typ I bei Kindern lassen vermuten, daß Infektionen mit diesen Keimen als Ursache für abdominelle Krankheitsbilder bei Säuglingen und Kindern (Nabelkoliken, unklare Brechzustände, rezidivierende Leibschmerzen und enteritische Zustände) relativ selten vorkommen.

In einem Fall konnte bestätigt werden, daß eine Infektion mit Past. pseudotuberculosis auch unter dem Bilde einer Enteritis verlaufen kann.

Literatur

Hörstebrock, R.: Zbl. Path. **91,** 221 (1954). — Knapp, W.: Zbl. Bakter. **161,** 422 (1954); **164,** 57 (1955). — Chirurg **26,** 440 (1955). — Z. Hyg. **143,** 261 (1956). — Knapp, W., u. W. Masshoff: Dtsch. med. Wschr. **1954,** 1266. — Knapp, W., u. W. Steuer: Z. Immunforsch. **113,** 370 (1956). — Kuhlmann, F., u. W. Herrmann: Med. Klin. **1955,** 1735. — Masshoff, W.: Dtsch. med. Wschr. **1953,** 532.

Privatdozent Dr. O. H. Braun, Universitäts-Kinderklinik, Erlangen

Druck von J. P. Peter, Gebr. Holstein, Rothenburg o. Tbr.

LEBENSLAUF

Am 4. April 1930 wurde ich als Sohn des Fabrikanten Albin Müller und seiner Ehefrau Paula, geb. Steiner, in Neustadt b. Cobg. geboren. Im Anschluß an die Volksschule besuchte ich ab 1941 die Realschule in Neustadt. Die letzten beiden Klassen bis zum Abitur absolvierte ich an der Oberrealschule in Coburg, wo ich im Juli 1950 die Reifeprüfung ablegte. Im W.S. 1950/51 begann ich das Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen. Im März 1954 legte ich hier die ärztliche Vorprüfung ab. Nach sechs klinischen Semestern meldete ich mich im Herbst 1957 zur ärztlichen Prüfung, die ich mit gutem Erfolg bestand.